

## 미성숙 돼지 대퇴골두 무혈성 괴사에서 괴사부 절제 및 DBM-CaSO<sub>4</sub> 이식효과

연세대학교 의과대학 정형외과학교실, 서울대학교 의과대학 정형외과학교실\*

이기석 · 김선용 · 최인호\*

= Abstract =

### Effect of Curettage and DBM-CaSO<sub>4</sub> Graft for the Treatment of Ischemic Necrosis of the Capital Femoral Epiphysis in Immature Pigs

Ki Seok Lee, M.D., Sun-Yong Kim, M.D., In Ho Choi, M.D.\*

*Department of Orthopaedic Surgery, Yonsei University, College of Medicine, Seoul, Korea  
Department of Orthopaedic Surgery, Seoul National University, College of Medicine, Seoul, Korea\**

**Purpose:** The purpose of this study was to determine the effect of curettage and DBM complex graft as a new treatment modality for LCP disease using piglet capital femoral epiphysis ischemic necrosis model.

**Materials and Methods:** Five to six weeks old piglets were used for the experiment. Ischemic necrosis of the capital femoral epiphysis was surgically induced by cervical ligation on both sides. Three weeks following ischemic insult, the left hip joint was approached medially. About 15% of the necrotic capital femoral epiphysis was curetted through a window which was opened at medial cervical cortex, then, demineralized bone matrix complex was engrafted. The right femoral heads served as controls. Piglets were sacrificed three, six, nine, and twelve weeks following were harvested for histologic examination.

**Results:** In control group, photomicrographs of specimens showed central necrosis and fibrovascular invasion in capital femoral necrosis at three weeks after ischemic insult. Six, nine, and twelve weeks following ischemic insult, fibrovascular invasion advanced without noticeable new bone formation and collapse of femoral head progressed. At twelve weeks, definite coxa plana developed. In curettage and DBM complex graft group, there was evident new bone formation observed in the site of DBM complex graft. At three weeks, new bone formation along with fibrovascular invasion was observed around the engrafted DBM complex mainly in the cervical metaphyseal area. At six and nine weeks, new bone formation progressed into the engrafted DBM complex in the cervical metaphysis and around the engrafted DBM complex in the capital femoral epiphysis. At twelve weeks, new bone along with new cartilage formation was observed in the capital femoral epiphysis.

**Conclusion:** In conclusion, curettage and DBM complex graft is thought to be an effective treatment modality that promote regeneration of ischemic necrosis of capital femoral epiphysis.

**Key Words:** Legg-Calvé-Perthes disease, Ischemic necrosis, Capital femoral epiphysis, Curettage, Demineralized bone matrix (DBM)

---

※ 통신저자: 최 인 호

서울시 종로구 대학로 101

서울대학교 어린이병원 정형외과

TEL: 02) 2072-3160 FAX: 02) 745-3367 E-mail: inhoc@snu.ac.kr

접수일: 2010년 9월 17일, 게재확정일: 2010년 11월 8일

\* 본 논문은 2005년도 서울대학병원의 임상연구비 (04-2005-071) 의 지원을 받아 이루어졌음.

## 서 론

소아 고관절 질환의 대표적 질환 중 하나인 LCP 병은 성인의 대퇴골두 무혈성 괴사와는 달리 무혈성 괴사 이후에 재형성기가 존재하며<sup>1)</sup>, 이 시기에 유치(containment) 등 적절한 치료로 조화로운 구형(spherical congruency)의 고관절을 도모함으로써 비교적 양호한 경과를 보인다<sup>2-4)</sup>. 하지만 기존의 치료 방법은 대체로 소아 특유의 재생 능력을 통한 재형성기에 의존하며, 병변의 대퇴골두 침범 정도가 심하거나, 상대적으로 고 연령인 환자 등 이러한 재생 능력이 떨어져 있는 경우는 성인의 대퇴골두 무혈성 괴사에서와 유사한 경과를 보이며, 유치 개념에 입각한 기존의 수술적, 비수술적 치료는 적절한 치료 효과를 보이지 않는다<sup>5)</sup>. 성인에서 무혈성 괴사에 따른 대퇴골두 변형과 고관절 퇴행성 고관절염에 대한 치료로 인공관절 치환술을 고려할 수 있지만, 이러한 인공관절 치환술도 고려될 수 없는 점을 감안하면, 광범위 대퇴골두 이환이나 고 연령 소아군에서의 LCP 병은 성인에서 보다 더 나쁜 경과를 보인다고 할 수 있으며, 이에 대한 뚜렷한 치료방법도 없는 것이 현재의 실정이다<sup>6)</sup>.

이에 저자들은 환자 고유의 재생 능력에 의존하는 유치(containment) 개념과 달리 보다 적극적인 LCP 병 치료 방법으로 대퇴골두 괴사부 절제(curettage)와 탈회골 기질 이식술(demineralized bone matrix graft)을 고안하였다. 이는 LCP병의 병태 생리에 근거하여 허혈성 손상으로 야기된 대퇴골두 내의 괴사 골 조직을 수술적으로 제거하고, 골 유도(osteinduction) 물질인 탈회골 기질을 이식함으로써 괴사 부위에 골 재생을 도모하는 방법이다.

하여 본 논문의 목적은 미성숙 돼지 모델을 이용하여, 광범위 대퇴골두 이환, 청소년기 LCP병에 대한 새로운 치료 방법으로서의 효과를 평가하는 것이다.

## 연구 대상 및 방법

5-6 kg의 5-6주령 미성숙 돼지 24마리의 대퇴골두를 실험 대상으로 하였다. 대퇴골두 허혈성

괴사 유도 방법은 Kim 등에 의해 소개된 대퇴 경부 결찰의 수술적 방법을 이용하였고<sup>6)</sup>, 탈회골 기질은 돼지 피질골(cortical bone)로 제작하였으며, 운반체로는 황산칼슘(CaSO<sub>4</sub>)을 사용하였다. 양측 대퇴골두에 동일하게 허혈성 괴사를 유도하였으며, 3주 경과시점에 좌측 대퇴골두에 괴사부 절제 및 탈회골 기질 이식술을 시행하였고, 우측 대퇴골두는 대조군으로 사용하였다. 괴사부 절제 및 탈회골 기질 이식 3, 6, 9, 12주(허혈성 괴사 유도 6, 9, 12, 15주) 시점에 각기 6마리의 돼지를 희생하여 조직학적 소견을 관찰 비교하였다.

### 1. 미성숙 돼지 LCP 병 모델: 허혈 손상 유발

전신마취하에 돼지를 측와위(lateral decubitus)로 눕히고, 고관절 부위에 약 5 cm 크기의 피부 절개를 가하는 외측 도달법(lateral approach)을 사용하였다. 대둔근(gluteus maximus)을 근육 결을 따라 절개하고, 이어 나타나는 중둔근(gluteus medius)과 대퇴근 사이를 통하여 고관절 관절낭을 노출시켰다. 관절낭을 절개하여 대퇴골두를 노출시키고, 곡형 가위(curved scissor)를 넣어 원형 인대(ligamentum teres)를 잘랐다. 대퇴골두와 비구 사이에 passer를 사용하여, 2번 ethibond(ETHIBOND EXCEL Polyester Suture, Ethicon Inc., Somerville, New Jersey, USA)를 대퇴 경부에 위치시키고, Slip-knot 술기를 이용하여 가능한 최대로 조이도록 대퇴 경부를 결찰하였다. 결찰 전에 관찰되었던 대퇴골두-경부 경계 부위의 붉은 모세 혈관 음영이 결찰 후 사라진 것으로 효과적 결찰이 이루어졌음을 확인하였다. 양측 대퇴골에 동일한 술식을 시행하고, 술후 돼지는 사육장으로 옮겨졌고, 행동에 제약을 가하지 않았다. 술후 3일 동안 예방적 항생제로 Gentamicin과 cefazoline을 피하 혹은 근육 투여하였다.

### 2. 탈회골 기질(demineralized bone matrix, DBM) 제작

탈회골 기질은 한스 바이오메드(HansBiomed, 대덕, 대한민국)에서 제작되었다. 태생 12-15주

령 돼지의 대퇴골 및 경골, 상완골을 채취하여, 골막을 비롯한 연부 조직을 모두 제거하고, 양단의 연골부를 제거하여 피질골인 골간부(diaphysis)만을 재료로 사용하였다. 생리 식염수로 골수 내 공간(bone marrow space)을 관주하여, 지방 조직을 비롯한 골수 세포(bone marrow cells)를 제거하였다.  $-70^{\circ}\text{C}$ 로 2주간 냉동 보관한 후 액화 질소 분쇄기(liquid nitrogen impacting mill)를 이용 100-500  $\mu\text{m}$ 의 크기로 분쇄하였다. 0.6 N 염산(hydrochloride) 용액에  $4^{\circ}\text{C}$ 로 72시간 동안 담궈 탈회(demineralization)시켰다. 탈회 후 인 버퍼 용액(phosphate buffer solution)으로 린스(rinse)한 후 100% 알코올과 에테르(ether)를 이용하여 건조시켰다. 완성된 탈회골 기질은 과립(granule) 형태로 압축 진공 포장 후 감마선 소독(gamma irradiation, 25 kGy, 한국 원자력 연구원, 대덕, 대한민국)으로 멸균 처리하여 보관하였다.

### 3. 피사부 제거 및 탈회골 기질 이식

양측 대퇴골두에 허혈성 손상을 가한 돼지의 좌측 대퇴골두를 대상으로 하였다. 허혈성 손상을 가한 3주 후를 피사부 제거 및 탈회골 기질 이식의 시점으로 잡았으며, 이는 Kim 등의 실험에서와 본 실험의 예비 실험 단계에서 확인한 바, 허혈성 손상 유발 3주 시점이 조직학적인 허혈성 손상 및 피사의 소견은 관찰되지만, 육안적, 방사선학적으로 아직 대퇴골두의 함몰이 진행되지 않은 상태로 피사부 제거 및 탈회골 기질 이식 효과를 판별할 수 있는 적절한 시기라 판단되었기 때문이다<sup>6)</sup>.

돼지에 전신 마취를 시행한 후 양와위(supine)로 위치시켰다. C-arm 방사선 투시기(fluoroscopy)로 고관절 부위를 확인한 후 고관절을 중심으로 서혜부에서 시작해서 대퇴골 간부에 이르는 7cm정도의 피부 절개를 가하는 내측 접근법(medial approach)을 선택하였는데, 이는 내측 접근법이 전외측 접근법(anterolateral approach)에 비하여, 출혈이 적은 편이며, 외전근(abductor musculature)의 손상이 적어 술 후 발생할 수 있는 고관절 아탈구(subluxation)의 빈도를 줄일 수 있으며, Lavigne 등의 연구에

서 확인된 것처럼 전내측(anteromedial) 부위가 대퇴골두를 공급하는 혈관 구조가 가장 적어 수술 중 추가적인 대퇴골두의 허혈성 손상 유발의 가능성이 적기 때문이다<sup>7)</sup>. 피하 조직을 절개하고, 심부의 내전근(adductor musculature)을 근육 결을 따라 절개하였다. 그 밑으로 고관절 관절낭과 내 회선 대퇴 동맥(medial femoral circumflex artery)이 노출되면, 내 회선 대퇴 동맥에 손상을 주지 않게 조심하며, 관절낭을 절개하였다. 이전 허혈성 손상을 위한 수술시 거처되었던 대퇴경부의 ethibond를 확인하고, 그 근위부 대퇴골두 연골 직하방 경부 피질골과의 연결부에 11 Gage 골수 흡입용 천자침(bone marrow aspiration needle)을 이용하여 구멍을 내었다. 천자침은 C-arm 방사선 투시기(fluoroscopy)로 확인하여 주로 대퇴골두 중상과 외측 경계부를 향하게 위치시켰으며, 그 끝은 대퇴골두 이차 골화 중심(secondary ossification center)과 연골부 경계까지 진행되도록 하였다. 천자침을 제거한 후 안과용 미세 큐렛(micro-curet)을 구멍 안에 넣고, 360도로 돌려 가며 이차 골화 중심(secondary ossification center)의 해면골부를 소파(curettage) 하였다. 미세 큐렛이 대퇴골두 연골부를 뚫고 관절 내까지 들어가지 않도록 C-arm 방사선 투시기로 확인하며 술식을 진행하였다. 생리 식염수로 고관절 내부 및 소파 부위를 관주하고, 탈회골 기질을 이식하였다. 탈회골 기질은 과립 형태로 되어 있어 이식을 위해서 황산칼슘( $\text{CaSO}_4$ )을 운반체(carrier)로 사용하였고, 유연성분으로는 CMC(carboxymethylcellulose)를 사용하였다. 이는 현재 FDA 공인을 받아 시판되고 있는 인체용 탈회골 기질 제품인 Allometrix<sup>®</sup> (Wright medical technology Inc., Arlington, Tennessee, USA)와 동일한 구성으로, 부피 대비 탈회골 기질 84%, 황산칼슘( $\text{CaSO}_4$ , MIIG<sup>®</sup> 115, Wright medical technology Inc., Arlington, Tennessee, USA) 9%, CMC(carboxymethylcellulose, Sigma-Aldrich Corporation, Milwaukee, Wisconsin, USA) 7%의 비율로 혼합하여 사용하였으며, 과립(granule), 분말 형태에 증류수를 첨가하여 치약 정도의 강도(paste-consistency)를 지

니는 putty형태로 이식하였다. 효과적인 이식을 위해서 척추 후만 교정술에 사용하는 골 시멘트 주입용 기기(KyphX<sup>®</sup> Express<sup>™</sup> Osteo Introducer<sup>®</sup> System, Kyphon Inc., Sunnyvale, California, USA)를 이용하여, putty형태의 탈회골 기질 복합체 1cc를 10 Gage의 분출구(nozzle)에 넣고, C-arm 방사선 투시기로 확인하며, 그 끝을 소파부 입구를 통해서 대퇴골두 이차 골화 중심 원위부 경계에 위치시킨 후 플런저(plunger)로 압력을 가하면서 밀어넣어 소파 부위와 그 입구까지 탈회골 기질 복합체를 채워 넣었다. 평균 0.6 cc 정도의 탈회골 기질 복합체가 이식되었으며, 이는 대퇴골두의 부피 대비 약 15%의 소파 및 이식에 해당되었다. 생리 식염수로 관주하고, 관절낭, 근육, 피부 등을 층별로 봉합하고, 술부는 약 5일 동안 소독 거즈를 이용하여 밀봉하였다. 술후 돼지는 사육장으로 옮겨졌고, 행동에 제약을 가하지 않았다. 술후 3일 동안 예방적 항생제로 Gentamicin과 cefazoline을 피하 혹은 근육 투여하였다.

#### 4. 조직학적 검사

괴사부 제거 및 탈회골 기질(demineralized bone matrix, DBM) 이식을 시행한 후 3, 6, 9, 12주 경과 시점에 각기 6마리의 돼지를 희생하였다. 양측 대퇴골을 적출한 후 소전자(lesser trochanter) 근위부만을 채취하여 10% 포르말린 용액(formalin solution)에 7일간 4℃ 냉장 보관하여 고정한 후, 5% 질산은(AgNO<sub>3</sub>) 용액에 3-4일간 4℃ 냉장 보관하여 탈회(decalcification)하였다. 탈회 처리가 끝난 대퇴골두를 최대 직경을 보이는 중앙부를 중심으로 절단하여 1cm

두께의 관상면 절편을 만들었다. 파라핀에 포말하여 조직의 파라핀 블록(paraffin block)을 제작한 후 7 µm 두께의 조직 절편으로 절단하여 현미경 슬라이드를 제작하였다. Hematoxylin-Eosin 및 Masson's Trichrome 염색을 시행한 후 조직학적 소견을 관찰하였다.

## 결 과

총 24 마리의 미성숙 돼지가 실험에 사용되었으며, 이 중 3주와 6주에 희생한 돼지 각각 1 마리의 좌측 고관절에 염증 소견이 관찰되어 실험군에서 제외되었으며, 9주에 희생한 1 마리의 대퇴골두에서는 괴사부 제거 및 탈회골 기질 이식 과정에서 과도한 괴사부 제거로 인한 관절 연골 천공으로 과도한 대퇴골두 변형이 발생되어 이 또한 실험군에서 제외하였다. 결과적으로 괴사부 제거 및 탈회골 기질 이식 효과를 관찰하기 위한 조직 표본으로 3주 경과 5개체, 6주 경과 5개체, 9주 경과 5개체, 12주 경과 6개체의 좌측 대퇴골두가 대상이 되었으며, 대조군으로 3, 6, 9, 12주 각각 6개체의 우측 대퇴골두가 대상이 되었다(Table 1).

#### 1. 허혈성 손상 유도 후 단순 관찰군

허혈성 손상 유도 후 다른 처치 없이 관찰한 단순 관찰군에서는 대퇴 경부 결찰(surgical ligation) 6주 경과(실험군의 괴사부 제거 및 탈회골 기질 이식 3주 경과 시점)에서부터 육안으로 확인할 수 있는 중심부 함몰(collapse)로 인한 대퇴골두 변형이 관찰되었으며, 현미경적으로 이차 골화 중심(secondary ossification center)의 중앙부

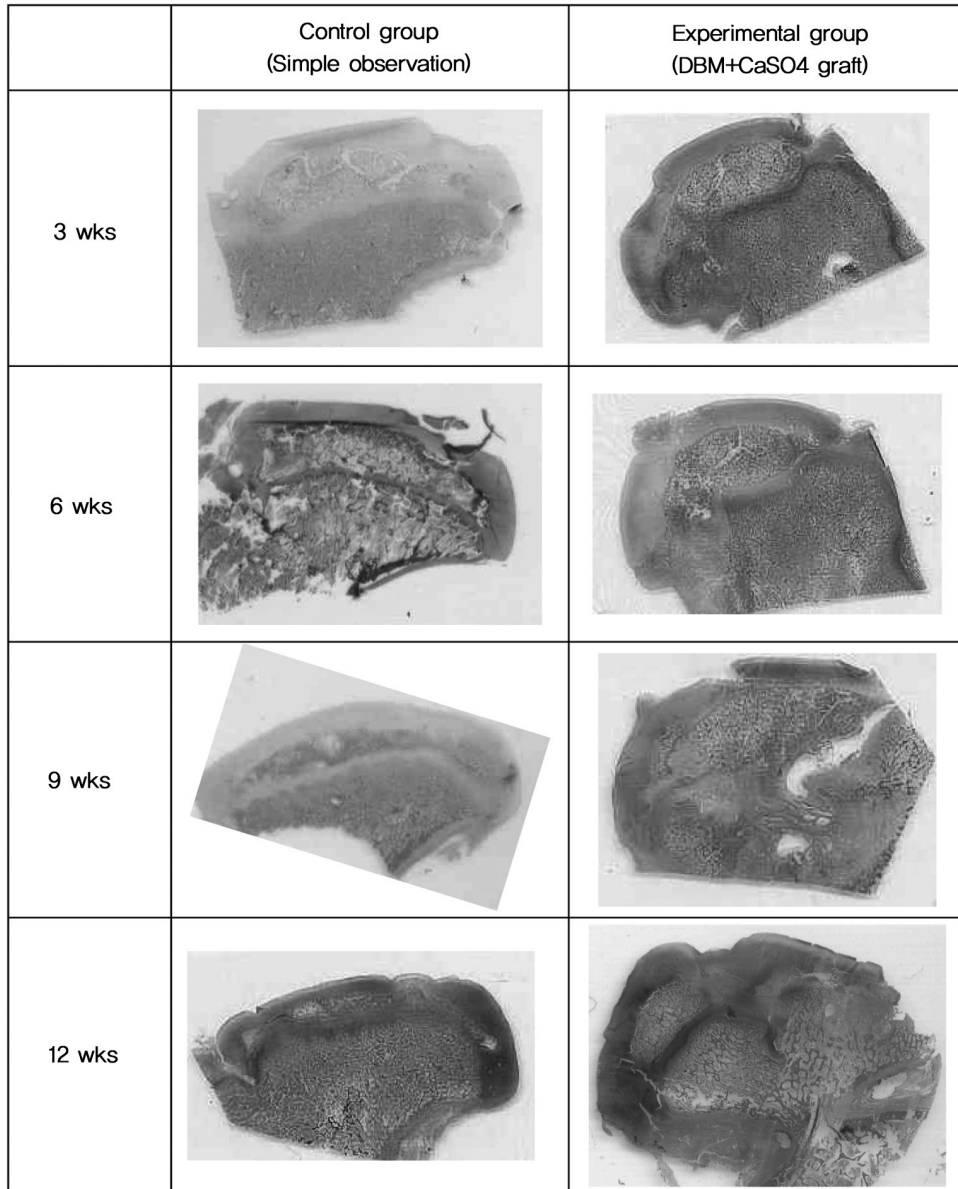
**Table 1.** Number of piglet's femoral heads used in the study.

Harvest time*	Experimental group Curettage & DBM graft (N=21)	Control group Simple observation (N=24)
3 weeks	5	6
6 weeks	5	6
9 weeks	5	6
12 weeks	6	6

\*From curettage & DBM graft.

에 피사 소견과 혈관 섬유 조직의 침윤(fibrovascular invasion)이 관찰되었다. 또한 주변부(periphery)에서부터 이차 골화 중심 주변 성장판의 재생 및 연골내 골화를 통한 신생 골 형성이

관찰되었으며, 시간이 경과함에 따라 중앙부의 이차 골화 중심 주변 성장판의 재생 및 연골내 골화를 통한 신생 골 형성으로 진행되었으나, 이차 골화 중심 내부의 피사부는 골 조직이 아닌 섬유 조



**Fig. 1.** Photomicrographs of femur head of each groups stained with Hematoxylin and Eosin at original scale. In control (simple observation) group, collapse of femoral head progressed with time, resulted in coxa plana deformity. In experimental (DBM+CaSO<sub>4</sub> graft) group, partial disruption of metaphyseal physis reflects the passage of previous curettage & DBM complex graft. New bone formation at the site of engrafted DBM complex was observed, but femoral head collapsed with time.

직(fibrous tissue)으로 대체되었다. 이차 골화 중심 성장판의 전반적인 재생 및 연골내 골화를 통한 신생 골 형성에도 불구하고, 대퇴골두의 함몰에 따른 대퇴골두의 변형은 교정되지 않은 채로 편평 고(coxa plana)로 진행되었다(Fig. 1).

## 2. 괴사부 제거 및 탈회골 기질(demineralized bone matrix, DBM) 이식군(Fig. 1-3)

괴사부 제거 및 탈회골 기질(demineralized bone matrix, DBM) 이식군에서는 대퇴 경부에서 대퇴 경부 성장판을 지나 대퇴골두의 이차 골화 중심(secondary ossification center)에 이르는 이식 탈회골 기질 주변부로 혈관 섬유 조직의 침윤(fibrovascular invasion)을 관찰할 수 있었다. 이러한 혈관 섬유 조직의 침윤은 이식 후 3주 경과 시점에서는 주로 이식 탈회골 기질과 주변 골 조직 부근에서 관찰되었으며, 대퇴 경부에서는 신생 골 형성이 활발하였으나, 대퇴골두 이차 골화 중심(secondary ossification center)에서는 상대적으로 혈관 섬유 조직의 침윤과 신생 골 형성은 적었다(Fig. 2, 3). 6주 경과 시점에서는 이식 탈회골 기질 주변부뿐만 아니라 중앙부에서도 혈관 섬유 조직의 침윤과 신생 골 형성이 관찰되었고, 이차 골화 중심부에서도 이러한 변화가 관찰되었으며, 일부에서는 신생 연골 조직이 나타나기도 하였다(Fig. 2, 3). 9주 경과 시점에서는 침윤된 혈관 섬유 조직에서 신생 골 형성이 더욱 진행되었으며(Fig. 3), 12주 경과 시점에서는, 신생 골 형성과 함께 일부 신생 연골 조직의 형성이 관찰되었고, 이 신생 연골 조직 일부에서는 골화가 진행되기도 하였다(Fig. 3). 이러한 신생 골 형성은 탈회골 기질 이식부를 중심으로 진행되었고, 그 이외의 대퇴골두 부위에서는 신생 골 형성 없이 혈관 섬유 조직의 침윤만이 진행되고 괴사부는 섬유 조직으로 대체되는 소견을 보여 이식된 탈회골 기질이 효과적으로 신생 골 형성을 유도했음을 알 수 있었다.

## 고 찰

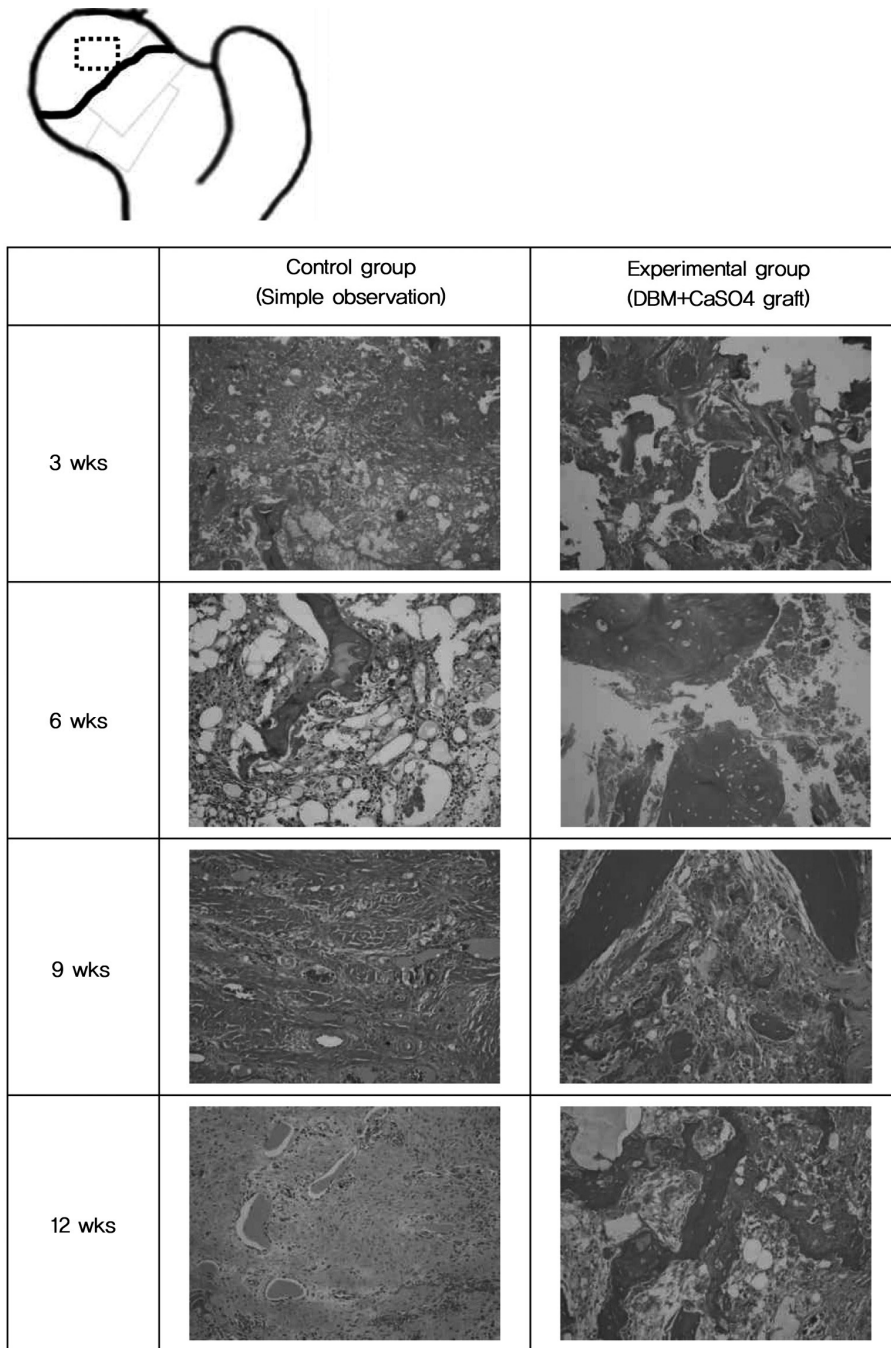
본 연구에서 저자들은 LCP병의 새로운 치료

방법으로 대퇴골두 괴사부 절제 및 탈회골 기질이 식술을 고안하고 이를 미성숙 돼지 대퇴골두 허혈성 괴사 모델을 통해 그 효과를 고찰하였다.

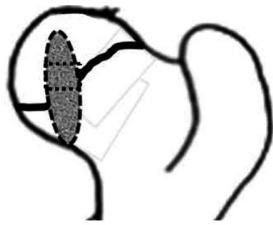
미성숙 대퇴골두의 허혈성 손상 유도의 방법으로는 대퇴 경부 결찰법(cervical ligation)을 사용하였는데, 이는 지대 동맥(retinacular vessels)과 원형 인대(ligamentum teres) 내부의 혈관을 제거하여 미성숙 대퇴골두를 공급하는 모든 혈관을 차단하는 것이다. 확실한 허혈성 손상을 유도할 수 있고, 이전의 다른 실험에서도 비교적 확실하고 일관적인 허혈성 손상 유도 방법으로 인정 받은 바 있으며<sup>6)</sup>, 본 연구에서도 대퇴 경부 결찰을 이용한 방법으로 확실하고 일관적인 허혈성 손상 유도를 확인할 수 있었다.

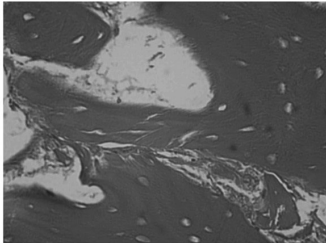
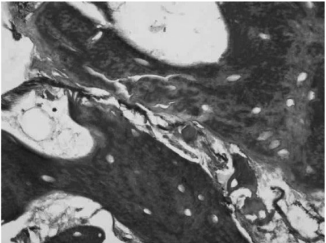
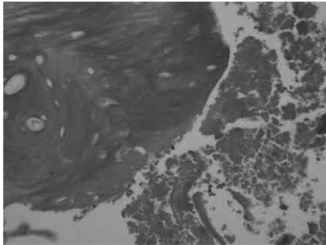
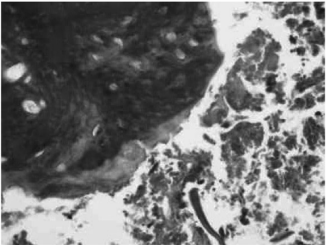
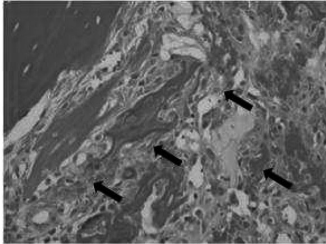
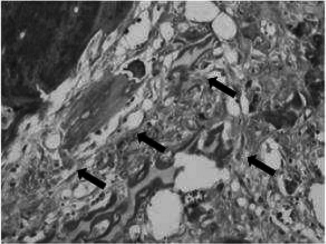
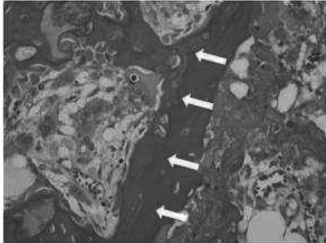
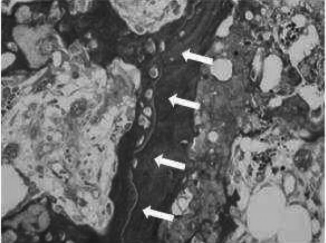
Kim 등도 이 대퇴 경부 결찰법을 이용하여 LCP병에서의 병태생리에 대한 연구를 시행한 바 있는데, 18개체의 미성숙 대퇴골두에 대퇴 경부 결찰을 시도한 후 최장 8주 추시 현미경적 소견을 통해 1) 대퇴골두 허혈성 괴사, 2) 혈관 섬유 조직의 침윤(fibrovascular invasion)과 파골 세포(osteoclast)의 흡수, 3) 신생 골 형성의 부재를 주요 소견으로 보고하였고<sup>6)</sup>, 저자들도 본 실험을 통해 유사한 병태 생리를 확인할 수 있었다.

저자들은 본 연구에서 미성숙 대퇴골두 허혈성 손상의 치유에서 괴사된 이차 골화 중심 허혈성 괴사 조직의 빠른 재생을 통한 신생 골 형성을 가장 중요하게 생각하였는데, 이는 이차 골화 중심 골 소주(bone trabecule)의 소실은 대퇴골두 함몰과 변형으로 귀결되기 때문이다<sup>8)</sup>. 괴사 조직은 흡수되지만, 신생 골로 재생되지는 않고 함몰되므로 원형으로의 재생을 위해서는 이차 골화 중심 주변 성장판의 연골내 골화가 중요해 진다. 이는 임상적으로 환자의 예후와 관련해서 중요한 의미를 갖는데, 이차 골화 중심부의 괴사 범위가 광범위하여 함몰부위가 많으면, 고관절에 안정성에 영향을 미쳐서 아탈구 등을 유발할 수 있고, 함몰이 심할수록 이차 골화 중심 주변부 성장판에서 더 많은 연골내 골화를 통한 재생이 필요하며, 더 오랜 이환기를 거칠 수 있다<sup>9)</sup>. 또한 이차 골화 중심 주변 성장판의 재생 능력이 떨어질 것으로 생각되는 청소년기 LCP 병에서도 불량한 예후를 보일 수 있으며, 이는 실제 임상에서도 확인할 수 있는



**Fig. 2.** Photomicrographs of femur head of each groups stained with Hematoxylin and Eosin at low magnification ( $\times 20$ ). At the top of the figure is a schematic drawing of the center of the secondary ossification center corresponding to the coronal sections of figures in the table. In control (simple observation) group, necrotic tissues are absorbed and replaced by fibrous tissue without new bone formation. In experimental (DBM+CaSO<sub>4</sub> graft) group, active new bone formation at the site of graft is observed nine weeks after graft procedure.



	Hematoxylin & Eosin	Masson's Trichrome
3 wks		
6 wks		
9 wks		
12 wks		

**Fig. 3.** Photomicrographs of femur head of experimental (DBM+CaSO<sub>4</sub> graft) group stained with Hematoxylin & Eosin and Masson's Trichrome at high magnification ( $\times 40$ ). At the top of the figure is a schematic drawing of the site of engrafted DBM complex in the secondary ossification center corresponding to the coronal sections of figures in the table. Until 6 weeks after DBM complex graft, there is no active new bone formation observed around the engrafted DBM complex in the secondary ossification center. At nine weeks after DBM complex graft, fibrous tissue and early stage of endochondral bone mixed with fibrous tissues were observe (black arrow). At twelve weeks after DBM complex graft, new bone growth as indicated by osteocytes forming cement lines on Masson's Trichrome staining sections (white arrows).



현상이다<sup>5)</sup>. 따라서 이차 골화 중심부에 괴사 조직의 신속한 제거와 빠른 신생 골 형성은 대퇴골두 함몰을 막으며, 이차 골화 중심 주변 성장판의 재생의 부담도 감소시켜 보다 짧은 이환 기간에 보다 구형의 재생을 기대할 수 있을 것이다.

대퇴골두의 무혈성 괴사에서 괴사 골 조직의 신생 골 형성을 위한 이전의 시도로 Mont 등은 성견(adult dog) 대퇴골두에 관절면 일부를 trap-door 방법으로 열고 만든 결손 부위에 자가 장골 피질골-해면골 이식(autogenous iliac cortico-cancellous bone graft)을 이용해서 피질골로는 기둥을 만들고 그 사이를 해면골을 채워 넣어 성공적인 골 재생을 관찰하였다<sup>10)</sup>. 이를 바탕으로 성인 대퇴골두 무혈성 괴사 환자에 대해서 동일한 방법으로 치료하여 일부 성공적인 결과를 얻을 수 있었다<sup>11)</sup>. 이는 매우 고무적인 결과로 LCP 병에서의 적용 가능성을 시사하지만<sup>12)</sup>, 성인 대퇴골두 무혈성 괴사와 LCP 병이 동일 질병이 아님을 감안할 때 이를 그대로 수용하는 것은 바람직하지 않을 수 있다. 그 이유로 1) trap-door 술식은 미성숙 대퇴골두 관절 연골과 이차 골화 중심 주변 성장판이 연결되어 있으므로, 골두 재생에 중요한 성장판에 손상을 줄 수 있고, 2) 실제 LCP 병 환자에서는 이차 골화 중심의 함몰과 함께 관절 연골부의 비대(hypertrophy)를 보이므로, trap-door를 열기 자체가 어려울 수 있으며, 3) 피질골로 기둥을 만들어 기계적 하중을 지탱한다 하더라도 이미 함몰과 변형이 있는 대퇴골두가 trap-door로 생긴 대퇴골두 관절 연골부의 균열로 인해 더 심한 함몰 및 변형이 유발될 수 있다는 것으로 이는 본 실험의 예비 실험에서도 확인한 바 있다. 또한 4) 괴사부 제거 및 골 이식을 하더라도, 대퇴 경부 성장판이 지속적으로 대퇴골두로의 혈행을 막고 있는 등 재혈관화의 촉진을 도모할 수는 없으며, 5) 성견 실험 자체가 허혈성 손상 모델이 아닌 단순 결손 모델로 이러한 골 이식이 허혈성 괴사가 있는 대퇴골두에서 성공적인 신생 골 형성을 이룬 것은 아니므로, 이에 대한 확인이 필요할 것이다.

본 연구에서는 괴사 골 조직을 제거하고 골 형성 촉진 물질을 이식하는 방법으로 고관절 내측 도달법(medial approach)으로 내측 대퇴 경부

에서 성장판 일부를 통과하여 이차 골화 중심까지 접근하는 방법을 사용하였다. 이 방법의 장점은 관절 연골을 통하지 않으므로, 대퇴골두 관절면의 의인성(iatrogenic) 함몰이나 변형을 조장할 위험이 없으며, 내측 대퇴 경부를 통한 접근이 허혈성 손상에 있는 대퇴골두에 추가적인 혈관 손상을 줄 위험성이 가장 적다는 것이다<sup>7)</sup>. 또한 외부에서부터 대퇴골두까지의 접근로가 짧아서 괴사 조직 소파, 골 형성 물질의 이식 등의 작업이 용이하며, 다른 접근법에 비해서 비교적 출혈이 적다는 점이다. 가장 큰 단점으로는 성장판을 통과하므로 이에 대한 손상이 필연적으로 동반되어 단 고(coxa breva)를 유발할 수 있다는 우려이다. 하지만, 본 치료의 대상이 이미 대퇴 경부 성장판의 손상이 상당히 진행되어 있는 광범위 대퇴골두 이환 LCP병이나 대퇴 경부 성장판의 잔여 성장이 얼마 남지 않은 청소년기 LCP병을 대상으로 한다는 것과, 본 연구 결과 탈회골 기질이 이식된 대퇴 경부 성장판 부위에서 술후 12주까지 골 가교(bone bridge)가 형성되지 않았다는 것을 고려하면, 대퇴 경부 성장판 일부를 통한 상기 술식이 향후 치료 결과에 부정적 영향을 미칠 가능성은 미미할 것으로 사료된다.

본 연구에서 신생 골 촉진을 위한 이식물로는 탈회골 기질(DBM, demineralized bone matrix)을 사용하였다. 탈회골 기질은 동종 피질골을 산성 용액으로 탈회(demineralize)시킨 것으로 피질골의 콜라겐과 비콜라겐 단백질로 구성된다<sup>13)</sup>. 탈회 과정을 통해 피질골 내에 함유되어 있는 비콜라겐 단백질의 주변으로의 유리가 용이해진다. 세포 성분은 제거되어 면역 거부 반응은 없는 대신 자가 해면골 이식(autologous cancellous bone graft)에서와 같은 골 전구세포(osteogenic progenitor cell)에 의한 직접 골 형성(osteogenesis)은 없는 대신 주변의 골 전구세포의 동원(recruitment)에 의한 골 유도(osteinduction), 골 전도(osteoconduction)을 통해서 신생 골 형성이 이루어 진다<sup>14)</sup>. 많은 연구에서 탈회골 기질에 의한 골 형성이 관찰되었으며, 현재 임상에서도 골 이식 대체물의 일환으로 활발히 사용되고 있다. 탈회골 기질을 통한 재생은 골 조직뿐만 아니라, 일부 관절 연골의 재생에

도 긍정적인 효과를 보이는 것이 관찰되었으며, 이것은 탈회골 기질 내에 함유된 성장인자, 싸이토키인 등을 포함하는 단백질 성분이 in vivo하에서 결손 부위에 가장 적절한 조직으로의 재생을 유도하기 때문이라고 이해되고 있다. 피질골 결손, 골간단부(metaphysis)의 해면골 결손, 일부 골격계 근육내(intramuscular) 뿐만 아니라, 골단에서의 신생 골 형성도 보고된 바 있다<sup>15)</sup>.

하지만 본 연구에서 허혈성 손상을 받은 미성숙 대퇴골두 이차 골화 중심의 괴사 조직에서는 기대에서 보다는 느린 신생 골 형성을 보였다. 탈회골 기질 이식 약 9주 시점에서 이차 골화 중심부에서의 신생 골 형성을 보였는데, 이는 대퇴 경부가 3주 시점에서부터 신생 골 형성을 보인 것과 다른 연구에서 보고된 신생 골 형성 시점과 비교할 때 매우 느린 것이다. Turner 등이 성견(adult dog) 상완골 골 간단부(metaphysis) 골 결손부에 탈회골 기질(demineralized bone matrix, DBM) 이식 6주 후 거의 완전한 골 치유를 보고하였으며<sup>16)</sup>, Mont 등이 성견 대퇴골두 결손 모델에서 자가 골 이식 16주에 완전한 골 치유를 보고하였다<sup>10)</sup>.

탈회골 기질의 신생 골 형성과 관련된 기존의 연구는 대개 근육 내에서의 이소성 골 형성(intramuscular heterogenous ossification), 피질골 결손(cortical defect), 골 간단부의 해면골 결손(metaphyseal cancellous bone defect)의 치유 등에 관한 연구이었고, 실험 동물은 대개는 비교적 치유기간이 빠른 흰쥐(rat)였다<sup>14-16)</sup>.

본 연구에서 탈회골 기질이 생각보다 늦은 신생 골 형성을 보인 것과 관련된 인자로는 이식부가 허혈 상태의 조직이라는 점을 생각할 수 있을 것이다. 허혈 조직의 빈약한 혈행 공급에서의 신생 골 형성은 불리할 수 밖에 없을 것이다. 또, 탈회골 기질의 신생 골 형성의 과정이 자체에 골 전구 세포(osteoprogenitor cell)를 포함한 골 형성(osteogenesis)이 아니라, 골 유도(osteinduction), 골 전도(osteoconduction)로 주변부에서 골 전구 세포의 동원(recruitment)을 필요로 하는데, 외부로부터의 혈행이 차단되어 있고, 이차 골화 중심내의 골수(bone marrow)는 이미 허혈성 괴사가 진행된 상태로 탈회골 기질로 동원될

골 전구 세포의 원천(source)이 문제가 될 것이다. 탈회골 기질의 이식에도 불구하고 이차 골화 중심의 골수(bone marrow)에서의 신생 골 형성이 늦었던 반면, 이차 골화 중심 주변 성장판에서의 연골내 골화의 재생은 비교적 빨리 활발히 진행되었다. 이것은 이차 골화 중심 주변 성장판의 독특한 해부학적 구조로 설명될 수 있을 것이다. 이차 골화 중심 주변의 성장판은 대퇴골두 관절 연골과 인접해 있어 소위 관절-골단 연골(articular-epiphyseal cartilage complex)을 이룬다. 대퇴골두 내의 이차 골화 중심 외부를 성장판 연골이 감싸고, 이 외부를 다시 대퇴골두의 관절 연골이 감싸게 된다. 결국 대퇴골두의 관절 연골의 심부 구조와 성장판의 정지대(resting zone)가 연결되며, 두 구조 내의 연골 세포(chondrocyte)는 육안으로 구별하기 어려울 정도로 인접해 있다. 이들 연골 세포는 관절 연골 표층으로 분화된 연골 세포를 공급하고, 성장판에서는 정지대(resting zone)을 이루며, 성장대(proliferative zone)로 연결된다. LCP 병은 기본적으로 대퇴골두의 관절 연골에 영향을 미치지 않는다. 이것은 관절 연골은 관절액의 확산(diffusion)에 의해 산소 및 영양분을 공급받게 되어 대퇴골두의 허혈성 손상과는 다른 양상을 보인다. 허혈성 손상으로 괴사에 빠진 이차 골화 중심 주변 성장판의 성장대(proliferative zone), 증식대(hypertrophic zone)와는 달리 정지대(resting zone)의 연골 세포는 산소 요구도도 낮을뿐더러<sup>17)</sup> 관절 연골의 확산(diffusion)에 의한 산소 공급으로 허혈성 손상의 영향을 받지않은 상태로 이차 골화 중심 주변 성장판을 통한 연골내 골화 재생의 원천(source)이 되는 것으로 생각된다.

따라서 허혈성 손상의 중심에 있는 이차 골화 중심 골수 내의 신생 골 형성을 위해서는 골 유도(osteinduction), 골 전도(osteoconduction) 작용을 지닌 탈회골 기질 이외에 이에 동원될 수 있는 골 전구 세포를 포함하는 세포 치료를 병행하거나, 그 자체에 골 전구 세포를 포함하고 있는 자가 해면골 이식(autogenous cancellous bone graft)을 추가하는 등의 방법을 병행하는 것이 바람직할 것으로 생각된다. 또 탈회골 기질 이식부의 기계적인 안정성도 신생 골 형성에 영향을 미

칠 것으로 생각된다. 탈회골 기질로 인한 왕성한 골 재생을 확인한 기존의 대부분의 실험은 부분적인 피질골의 결손(partial cortical defect)이나 기계적 하중을 받지 않는 해면골의 결손에서의 실험이었다. 본 연구는 주변 조직의 괴사 흡수로 인해 지속적인 함몰이 진행되는 상태에서의 신생 골 형성으로 골 형성에 있어서의 기계적 안정성의 중요성을 생각한다면, 이러한 대퇴골두의 함몰이 탈회골 기질 이식 후 신생 골 형성 지연의 한 원인으로 이해 될 수 있을 것이다.

LCP 병에서의 최종의 치료 목표는 대퇴골두의 변형을 최소화 또는 구형으로 재생시키는 것이다<sup>18)</sup>. 이 점을 고려하면 본 연구에서 괴사부 수술적 제거 및 탈회골 기질 이식만으로는 최종 치료 목표를 달성시켜 주지는 못할 것으로 생각된다. 괴사부 수술적 제거 및 탈회골 기질 이식으로 이차 골화 중심 내 괴사 부위에 신생 골 형성은 확인할 수 있었지만, 대퇴골두의 함몰 자체는 막을 수 없었기 때문이다. 대퇴골두의 함몰을 막을 수 없었던 요인으로 신생 골 재생까지의 기간이 오래 소요되었다는 점과 탈회골 기질의 기계적 강도가 약해서 이식부를 포함한 대퇴골두의 함몰을 막을 수 없었다는 점을 생각할 수 있다. 탈회골 기질은 효과적인 신생 골 형성을 위해서 100-500  $\mu$ m 크기로 분쇄하는 과정이 필요하며, 최종 산물은 과립(granule) 형태가 된다. 이러한 과립 형태는 조작하기도 힘들고 이식부에 계속 부착되어 있기 어렵기 때문에 운반체(carrier)를 사용하게 된다. 이러한 운반체의 작용은 탈회골 기질이 혈액 등의 수분에 의해 소실되는 것을 막고, 효과적으로 이식부에 투여하기 위한 조작성을 용이하게 하는데 있으며, 기계적인 강도를 높이는 작용은 하지 않는다. 이는 운반체가 탈회골 기질 복합체의 기계적인 강도를 높이게 되면, 그에 수반되어 생체 흡수에 기간이 오래 걸리며, 기질 내의 싸이토키인의 분비에도 지장을 초래하여 골 형성 효과를 감소시키며, 그 기간도 연장시킬 수 있기 때문이다. 현재로서는 탈회골 기질의 효과를 저해하지 않으면서 기계적인 강도를 높이는 운반체는 없는 실정이다. 따라서 탈회골 기질 복합체 이식 후 골 재생 기간까지는 대퇴골두의 함몰(collapse), 변형을 막는 추가 조치가 필요할 것으로 생각된다.

LCP 병으로 인해 허혈성 괴사와 함몰을 보이는 대퇴골두를 원형으로 재생될 수 있도록 하는 데에는 전술한 바와 같은 병태 생리에 대한 정확한 이해와 이에 대한 적절한 교정이 필요할 것이다. 본 연구에서 LCP 병의 치료를 위하여 교정하고자 한 병태 생리는 이차 골화 중심부의 괴사와 흡수, 신생 골 형성의 부재이다. 괴사부 제거 및 탈회골 기질 이식술은 괴사부를 제거하고 그 부위에 골 형성 유도 물질을 삽입함으로써 신생 골 형성을 효과적으로 유도할 수 있었다. 하지만, 신생 골 형성까지의 기간이 오래 걸렸고, 대퇴골두의 함몰을 효과적으로 막을 수는 없었다. 이는 전술한 바와 병태 생리와 연관되는 여러 가지 요인을 괴사부 제거 및 탈회골 기질 이식술 한 가지 술식만으로 모두 교정할 수는 없기 때문이다. 이에 허혈성 괴사 상태인 대퇴골두 이차 골화 중심에 효과적인 재관류의 도모를 위한 천공술(drilling), 골 재생 촉진을 위한 줄기 세포의 첨가, 골 재생 기간 동안의 대퇴골두 함몰(collapse), 변형을 방지하기 위한 일시적인 고관절 외고정 장치 거치 등은 괴사부 제거 및 탈회골 기질 이식술과 병행하여 원형의 대퇴골두 재생을 위한 LCP 병의 치료를 위한 유용한 방법으로 고려할 수 있을 것으로 생각된다.

## REFERENCES

- 1) **Waldenstrom H:** The first stages of coxa plana. J Bone Joint Surg Am. 1938;20:559-66.
- 2) **Lloyd-Roberts GC, Catterall A, Salamon PB:** A controlled study of the indications for and the results of femoral osteotomy in Perthes' disease. J Bone Joint Surg Br. 1976;58:31-6.
- 3) **Eyre-Brook AI:** Osteochondritis deformans coxae juvenilis, or Perthes' disease: the results of treatment by traction in recumbency. Br J Surg 1936;24:166
- 4) **Harrison MH, Menon MP:** Legg-Calvé-Perthes disease. The value of roentgenographic measurement in clinical practice with special reference to the broomstick plaster method. J Bone Joint Surg Am. 1966;48:1301-18.

- 5) **Joseph B, Mulpuri K, Varghese G:** Perthes' disease in the adolescent. *J Bone Joint Surg Br.* 2001;83:715-20.
- 6) **Kim HK, Su PH, Qiu YS:** Histopathologic changes in growth-plate cartilage following ischemic necrosis of the capital femoral epiphysis. An experimental investigation in immature pigs. *J Bone Joint Surg Am.* 2001;83:688-97.
- 7) **Lavigne M, Kalthor M, Beck M, Ganz R, Leunig M:** Distribution of vascular foramina around the femoral head and neck junction: relevance for conservative intracapsular procedures of the hip. *Orthop Clin North Am.* 2005;36:171-6.
- 8) **Kim HK, Su PH:** Development of flattening and apparent fragmentation following ischemic necrosis of the capital femoral epiphysis in a piglet model. *J Bone Joint Surg Am.* 2002;84:1329-34.
- 9) **Herring JA, Neustadt JB, Williams JJ, et al.:** The lateral pillar classification of Legg-Calve-Perthes' disease. *J Pediatr Orthop* 1992;12:143-50
- 10) **Mont MA, Jones LC, Elias JJ, et al.:** Strut-autografting with and without osteogenic protein-1: a preliminary study of a canine femoral head defect model. *J Bone Joint Surg Am.* 2001;83: 1013-22.
- 11) **Mont MA, Einhorn TA, Sponseller PD, Hungerford DS:** The trapdoor procedure using autogenous cortical and cancellous bone grafts for osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br.* 1998;80:56-62.
- 12) **Wells L, Hosalkar HS, Crawford EA, Agrawal N, Goebel J, Dormans JP:** Thorough debridement under endoscopic visualization with bone grafting and stabilization for femoral head osteonecrosis in children. *J Pediatr Orthop.* 2009;29: 319-26.
- 13) **Urist MR, Sato K, Brownell AG, et al.:** Human bone morphogenetic protein (hBMP). *Proc Soc Exp Biol Med.* 1983;173:194-9.
- 14) **Colnot C, Romero DM, Huang S, Helms JA:** Mechanisms of action of demineralized bone matrix in the repair of cortical bone defects. *Clin Orthop Relat Res.* 2005;435:69-78.
- 15) **Gao J, Knaack D, Goldberg VM, Caplan AI:** Osteochondral defect repair by demineralized cortical bone matrix. *Clin Orthop Relat Res.* 2004;427 Suppl:S62-6.
- 16) **Turner TM, Urban RM, Hall DJ, et al.:** Osseous healing using injectable calcium sulfate-based putty for the delivery of demineralized bone matrix and cancellous bone chips. *Orthopedics.* 2003;26(5 Suppl):s571-5.
- 17) **Ballock RT, O'Keefe RJ:** The biology of the growth plate. *J Bone Joint Surg Am.* 2003;85: 715-26.
- 18) **Stulberg SD, Cooperman DR, Wallensten R:** The natural history of Legg-Calvé-Perthes disease. *J Bone Joint Surg Am.* 1981 Sep;63(7):1095-108.